1909

Aus dem physiologischen Institut der Universität zu Bonn.
Geh. Mediz.-Rat Prof. Dr. E. Pflüger.

Über
den Einfluß, den die Konzentration der Kalilauge auf die quantitative Analyse des Glykogenes ausübt.

Inaugural-Dissertation
der
hohen vereinigten medizinischen Fakultät
zu Gießen
zur
Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Paul Heyden,
prakt. Tierarzt
in
Hermülheim bei Cöln.

BONN 1909
Bonner Kunstdruckerei Arthur Broch.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten
medizinischen Fakultät zu Gießen.

Referent: Professor Dr. Garten.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0327

Zur quantitativen Bestimmung des Glykogenes der Organe ist es erforderlich, dieselben in den gelösten Zustand überzuführen und aus diesen Organlösungen das Glykogen auszufällen. Denn die Untersuchungen von R. Külz[1]), Pavy[2]), Panormow[3]), Cavazzani[4]), Austin[5]), und Nerking[6]) erwiesen, daß diejenigen Analysen, bei denen der Glykogengehalt der Organe lediglich durch Ausziehen mit heißem Wasser ermittelt ist, keinen Wert haben, da der nach wiederholten Wasserextraktionen anscheinend glykogenfreie Organbrei nach Lösung in Kalilauge noch beträchtliche Mengen Glykogen lieferte. Andererseits ist von Pflüger[7]) nachgewiesen, daß es bei genügend langer Extraktion mit Wasser (21 Tage und Nächte) doch gelingt, alles Glykogen auszuziehen, was natürlich für quantitative Bestimmungen nicht in Betracht kommen kann.

Als das beste Mittel, die Organe für Glykogenbestimmungen aufzuschließen, stellte sich die Kalilauge heraus. Die Ansichten über die Zweckmäßigkeit der Kalilauge und über die Zulässigkeit ihrer Anwendung bei Glykogenanalysen sind jedoch lange Zeit geteilt gewesen.

[1]) R. Külz, Zeitschrift für Biologie, Bd. 22, S. 194, 1886

[2]) F. W. Pavy, Phil. Trans. 1881. — The Physiology of the Carbchydrates, S. 122, 1894.

[3]) Panormow, Gazetta lekarska, 1887 (Nr. 12—19).

[4]) Cavazzani, Engelmanns Archiv, S. 541, 1897.

[5]) Austin, Virchows Archiv, Bd. 150, S. 185, 1897.

[6]) Pflügers Archiv, Bd. 81, S. 638, 1900.

[7]) Pflügers Archiv, Bd. 102, S. 630, 1904.

Der Entdecker des Glykogens, Claude Bernard, benutzte[1]) sowohl zur Reinigung der glykogenen Substanz als auch zur Bestimmung des Glykogens der Organe eine konzentrierte Lösung von Ätzkali in Alkohol und erklärte[2]): „Die glykogene Substanz ist in der Tat in alkoholischer Kalilauge unlöslich, während die meisten Eiweisstoffe sich darin lösen oder zerfallen." Cl. Bernards Annahme, „daß man mit Hilfe dieser Flüssigkeit die glykogene Substanz isolieren und ihre Eigenschaften mit Reagentien prüfen kann, wenn sie durch fremdartige Stoffe maskiert ist", stützt sich nicht auf quantitative Versuche. Jedenfalls wurde der Nachweis nicht erbracht, daß durch Kochen mit Kalilauge kein Verlust der Glykogenmenge bedingt war.

August Kekule teilte[3]) die Ansicht Bernards von der Resistenz und Unlöslichkeit des Glykogens bei Einwirkung konzentrierter Kalilauge, da er zur Elementaranalyse das Glykogen nach der Vorschrift des Entdeckers reinigte und nicht untersuchte, ob trotz des Reinigungsprozesses die gewonnene Substanz identisch war mit dem Glykogen des Tierkörpers.

Bei der Ausführung quantitativer Bestimmungen des Glykogens der Leber benutzte Pavy[4]) die Eigenschaft desselben „der Wirkung einer siedenden Kalilauge zu wiederstehen".

Auch Ernst Brücke[5]) behandelte die glykogenhaltigen Organe mit Kali und sah „die bisher allgemein gemachte Annahme, daß das Glykogen auch in der

[1]) Leçons sur la Physiologie et la Pathologie du système Nerveux, t 1, S. 467 und Gazette médicale, 28. März 1857.

[2]) Journal de Physiologie, t II, S. 329.

[3]) August Kekule, Pharmazeutisches Zentralblatt 1858,

[4]) Pavy, Untersuchungen über Diabetes mellitus (deutsch von Dr. Langenbeck, Göttingen 1864, S. 27).

[5]) E. Brücke, Sitzungsbericht der Kaiserl. Akademie der Wissenschaft, Bd. 63, Abt. II.

Siedehitze für Kalilösung völlig unangreifbar sei" als richtig an.

Brücke hat diese „Annahme" aber nicht durch spezielle quantitative Versuche geprüft, hielt die Unangreifbarkeit des Glykogens auch nicht für erwiesen, sondern empfahl vor Anwendung siedender Kalilauge bei quantitativen Bestimmungen noch eine sorgfältige experimentale Prüfung dieser „Annahme".

Um die Zweifel über den Einfluß der Kalilauge auf Glykogen zu beseitigen, nahm Sigmund Weiss[1]) diese Prüfung vor und kam auf Grund einiger quantitativer Bestimmungen zu der Überzeugung von der Richtigkeit der allgemeinen Annahme, daß das Glykogen durch Kochen mit Kalilauge nicht angegriffen werde.

Während somit Weiß die schon von Bernard behauptete Widerstandsfähigkeit des Glykogens gegen Kochen mit Kalilauge bestätigte und auch Salomon[2]) und v. Wittich[3]) keine Bedenken gegen die Anwendung von Kalilauge hatten, machten v. Vintschgau und Dietl[4]) die Entdeckung, daß das Glykogen sogar durch sehr verdünnte Kalilauge bereits stark angegriffen werde. Beide Forscher stellten das Glykogen nach Brücke dar, indem zuerst die Leber mit Wasser ausgekocht, der wässrige Auszug sodann mit Salzsäure und Kaliumquecksilberjodid ausgefällt und das Filtrat mit einer eben ausreichenden Menge von Alkohol versetzt wurde. Das gefällte Glykogen wurde zuerst mit Alkohol von 61 %, dann von 95 % gewaschen. Das erhaltene Glykogen wurde nochmals in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt, dem eine

[1]) Sigmund Weiß, Sitzungsbericht der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaft, Bd. 64, 1871.

[2]) Salomon, Virchows Archiv, 1874, Bd. 61, S. 345.

[3]) Zentralblatt für die mediz. Wissenschaft, 1875, S. 115.

[4]) Pflügers Archiv, 1876, Bd. 13, S. 253.

kleine Menge Ammoniak beigefügt war. Der nochmals — wie vorstehend — gewaschene, wieder gelöste und mit essigsaurem Alkohol ausgefällte Niederschlag wurde erst mit schwachem, dann mit starkem Alkohol gewaschen. Quantitative Versuche von v. Vintschgau und Dietl mit dem auf die beschriebene Weise gewonnenen, nach Brücke dargestellten Glykogen ergaben, daß bei zweistündigem Kochen von Glykogenlösungen, die 0,95 % bis 1,9 % KOH enthielten, Verluste von 9,57 % bis 11,71 % beobachtet wurden. Die Verluste fielen in 3 Versuchen auf 2,93 % bis 1,84 % wenn nur ¼ Stunde mit Kalilauge erhitzt wurde, deren Konzentration auf 0,288 % bis 0,098 % verringert war. „Es sind dies gewiß hohe Verdünnungen", bemerken die Autoren, „wie sie beim Auflösen der Gewebe niemals in Anwendung kommen, und doch fanden wir bei allen drei Versuchen solche Verluste, daß sie die Grenzen der gewöhnlichen analytischen Fehler übersteigen, besonders in Hinsicht auf die einfachen Operationen, um die es sich hier handelt".

Der nächste Forscher, der sich eingehend mit der Frage über das Verhalten des Glykogens bei Einwirkung von Kalilauge beschäftigte, war Richard Külz [1]). Gelegentlich seiner Studien über die quantitative Bestimmung des Glykogens stellte er Versuche an, in welcher Weise Kali in der Wärme auf reine wässerige Glykogenlösungen einwirkt. Das von ihm nach Brücke dargestellte Glykogen wurde zu den Versuchen in 90 ccm Wasser gelöst und mit 10 ccm einer 10 prozentigen Kalilösung ein oder zwei Stunden im bedeckten Becherglase auf dem Wasserbade erhitzt. R. Külz stellte seine Analysen in nachfolgender Tabelle [2]) zusammen, aus welcher die Konzentration

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XXII, S. 161, 1886.
[2]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XXII, S. 173, 1886.

der angewandten Glykogenlösungen, sowie die Verluste an Glykogen ersichtlich sind.

№	Angewandtes Glykogen in gr	Wiedergefundenes aschefreies Glykogen in gr	Von d. wiedergefundenen Glykogen abgezogene Asche in gr	Verlust an Glykogen in %
I	1,0039	0,8983	0,0053	10,52
II	1,0167	0,9504	0,0057	6,52
III	1,0107	0,9614	0,0074	4,88
IV	0,5014	0,4706	0,0069	6,00

„In Versuch I wurde eine Stunde erhitzt, in den Versuchen II, III und IV je zwei Stunden".

Demnach bestätigte R. Külz die Tatsache, welche v. Vintschgau und Dietl entdeckt hatten, daß nach Brücke dargestelltes Glykogen durch siedende Kalilauge von 1 % zersetzt wird.

Als E. Pflüger[1]) die Versuche der genannten Autoren mit den von diesen angewandten Methoden wiederholte, aber das Kochen des Glykogens in 2 % Kalilauge 24 Stunden fortsetzte, stieg der Verlust bis auf 45 %. Das zu den Versuchen benutzte Glykogen war nach Brücke aus der Leber eines soeben geschlachteten Hundes dargestellt worden.

Unter genau denselben Bedingungen hatte Pflüger[2]) in denselben Gefässen Glykogenlösungen in Wasser, das kein Kali enthielt, dreimal solange erhitzt und einen Verlust von nur 1 bis 1,5 % beobachtet, der aber praktisch als belanglos anzusehen war, da das Kochen drei Tage und drei Nächte fortdauerte.

Sämtliche Forscher kamen also zu dem Ergebnis, daß das Glykogen durch siedende, sogar sehr verdünnte

[1]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 163, 1899.
[2]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 155.

Kalilauge zerstört wird. Obwohl R. Külz durch seine oben erwähnten Versuche bewiesen hatte, daß das von ihm auf das Sorgfältigste gereinigte Glykogen durch Kochen mit 1 % Kalilauge eine Zerstörung erlitt, gelangte er trotzdem zu der Ansicht, daß bei der mit verdünnter Kalilauge ausgeführten Glykogenanalyse der Organe das Glykogen nicht zerstört wird. Auf Grund von Versuchen [1]), in welchen er zu Fleichbrei, dessen Glykogengehalt er bestimmt hatte, noch eine gewogene Menge Glykogen zusetzte, 8 Stunden in 2 % Kalilauge kochte, analysierte und den Glykogengehalt und die zugefügte Menge vergrößert fand, hielt sich Külz zu der Behauptung berechtigt: „1. Das im Fleisch ursprünglich vorhandene Glykogen zeigte nach mehr als 8stündigem Erhitzen mit 2 % Kalilösung keine wesentliche Veränderung".

„2., wird einer größeren Fleischmenge Glykogen in wässeriger Lösung zugefügt, so kann man es durch die geschilderte Behandlung nahezu vollständig wiedererhalten. Mithin wird weder durch die Einwirkung der Kalilauge noch durch die Beschaffenheit des Quecksilberniederschlages ein beachtenswerter Verlust bedingt, ein Verhalten, das gegenüber den Beobachtungen bei Gemischen von Eierklar und Glykogenlösung besonders hervorgehoben zu werden verdient".

Bei einer Nachprüfung durch E. Pflüger [2]) erwiesen sich diese Schlußfolgerungen als irrig. Pflüger bewies, daß die Analysen von Külz auf falschen Voraussetzungen basierten und daß er tatsächlich das dem Fleischbrei zugefügte Glykogen, im Widerspruch zu seiner Behauptung, nicht wiedergefunden hat, vielmehr Fehlbeträge von 5,2 bis 5,7 % zu verzeichnen hatte. Auch konnten bei einer Reihe von Versuchen E. Pflüger

[1]) Zeitschrift für Biologie, Bd. XXII, S. 181—182, 1886.
[2]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 123, 1899.

und J. Weidenbaum [1]), der auf Pflüger's Veranlassung ähnliche Bestimmungen ausführte, das glykogenfreiem Fleisch zugefügte Glykogen nach der Methode von Külz nur mit großen Verlusten wiedergewinnen. Pflüger [1]) hat die Ergebnisse in untenstehender Generaltabelle zusammengestellt.

General-Tabelle [2]).

№	Angewandtes Trockenfleisch in Gramm	Aschefreies Glykogen in gr: angewandt	Aschefreies Glykogen in gr: wiedergefunden	Verlust an Glykogen in %	Wurde die alkalische Glykogenlösung gekocht oder nicht?	Beobachter	Herkunft des angewandten Glykogenes	Ist der Eiweissniederschlag nach Külz ausgewaschen oder nach Pflüger gelöst worden?
I 1	5,97	0,8753	0,8154	6,8	nicht gek.	Pflüger	Hundeleber	Nach Külz gew.
I 2	5,97	0,8753	0,8018	8,4	„ „	„	„	„ „ „
I 3	5,97	0,4816	0,4550	5,5	„ „	„	„	„ „ „
I 4	5,97	0,4816	0,4345	9,8	„ „	„	„	„ „ „
I 5	2,985	0,4816	0,4407	8,4	„ „	„	„	„ „ „
I 6	2,985	0,4816	0,4378	9,1	„ „	„	„	„ „ „
II 1	10,00	0,491	0,4130	15,9	„ „	„	Ochsenleber	Nach Pflüger gel.
II 2	10,00	0,491	0,4121	16,1	„ „	„	„	„ „ „
II 3	5,00	0,491	0,4196	14,5	„ „	„	„	„ „ „
II 4	5,00	0,491	0,4222	14,2	„ „	„	„	„ „ „
II 5	10,00	0,491	0,3847	21,7	gek. 6 St.	„	„	Nach Külz gew.
II 6	10,00	0,491	0,3914	20,3	„ 6 „	„	„	„ „ „
A 1	?	1,089	1,013	6,98	„ 3 „	Weidenbaum	Hundeleber	„ „ „
A 2	10,00	1,041	0,888	14,7	„ 9 „	„	„	„ „ „
A 3	10,00	1,121	0,888	20,7	„ 9 „	„	„	„ „ „
A 4	10,00	1,144	0,934	18,4	„ 9 „	„	„	„ „ „
B 1	10,00	2,033	1,665	18,1	„ 9 „	„	„	„ „ „
B 2	10,00	1,337	1,169	12,5	„ 9 „	„	„	„ „ „
B 3	10,00	1,775	1,429	20,1	„ 9 „	„	„	„ „ „
B 4	10,00	1,870	1,556	16,8	„ 9 „	„	„	„ „ „

[1]) J. Weidenbaum, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 113, 1899.
[2]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 137, 1899.

Pflüger kam aber zu einer ähnlichen Auffassung wie Külz. „Ich verglich", schreibt Pflüger[1]), „die Ausbeute an Glykogen, die ich erhielt, indem ich Organbrei nach der Vorschrift von R. Külz mit verdünnter Kalilauge in Lösung brachte und in einem zweiten Versuche aus derselben Menge desselben Organbreies erst mit Wasser einen großen Teil des Glykogenes auszog, ehe ich mit Kalilauge den ausgekochten Rückstand aufschloß. Beide Methoden lieferten ungefähr dieselbe Menge Glykogen, obwohl doch bei dem einen Versuche ein großer Teil des Glykogenes der Wirkung des Kalis nicht unterworfen war. Ohne neue Hypothese mußte geschlossen werden, daß das Glykogen des Organes durch die Kalilauge nicht angegriffen worden sei. Da nach den Analysen von v. Vintschgau und Dietl, Richard Külz und mir selbst auf das Sorgfältigste nach Brücke-Külz gereinigtes Glykogen durch dieselbe Kalilauge zersetzt wird, so zog ich den Schluß, daß die Kalimenge, welche bei der Külzschen Analyse in Anwendung gezogen wird, gerade hinreicht, um Kaliumalbuminat zu bilden, so daß das Eiweis, weil es das Kali bindet, das Glykogen schützt."

Dennoch wurde der Glaube an die durch Kalilauge bedingte Zerstörung des Glykogenes keineswegs beseitigt. Noch im Jahre 1903 erklärte E. Salkowski[2]): „Daß, wenn die Anwendung von Kalilauge zur Aufschließung der Leber unumgänglich notwendig sei, die Kalilauge aber das Glykogen angreife, man darauf ausgehen müsse, die Einwirkung des Kalis möglichst abzukürzen."

Da kein anderes Mittel zur Aufschließung der Organe bekannt war, wurde die Kalilauge, wenn auch

[1]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 96, S. 69, 1903.

[2]) E. Salkowsky, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 37, S. 444, 03.

möglichst verdünnt, bei der Glykogenanalyse allgemein angewandt, ohne daß man einen Anhaltspunkt über den jeweiligen Verlust an Glykogen hatte.

Um nun ein Urteil über die Fehlergrenzen bei der Kalimethode zu gewinnen, beauftragte Pflüger seinen Assistenten Dr. Nerking, Versuche über den Einfluß anzustellen, den Kochdauer und Konzentration der benutzten Kalilauge auf das in den Organen vorhandene Glykogen auszuüben vermag. Nerking[1]) kam zu dem Schluß: „daß Kochdauer und Konzentration der angewandten Kalilauge bei der quantitativen Glykogenbestimmung einen großen Einfluß hat. Dieser Einfluß äußert sich jedoch nicht, wie man erwarten sollte, in dem Sinne, daß bei längerer Kochdauer und gesteigerter Konzentration eine stetige Abnahme des Glykogens eintritt, sondern es wurden die wechselnsten Resultate erzielt, bald bekommt man weniger, bald gleich viel, bald aber auch mehr Glykogen, als wenn man blos bis zur sogenannten Lösung nach Brücke-Külz erhitzt.

Zur Erklärung der Wirkung des Kalis nahm Nerking zwei Prozesse an[2]): „Einmal wird durch den Einfluß der Kalilauge fortwährend neues Glykogen aufgeschlossen oder abgespalten, gleichzeitig aber auch schon gebildetes Glykogen durch die Kalilauge zerstört. Je nachdem der eine oder andere Prozeß vorwiegt, wird man mehr oder weniger Glykogen erhalten."

Das Ergebnis seiner ausgedehnten Versuche fast Nerking zusammen in den Worten: „für die Glykogenanalyse wird es das nächste Ziel sein, die Aufschließung mit Kalilauge aufzugeben".

Wegen der Tragweite dieser Forderung, bei deren Berechtigung alle bisherigen Glykogenanalysen, die

[1]) J. Nerking, Pflügers Archiv, Bd. 81, S. 37, 1900.
[2]) J. Nerking, Pflügers Archiv, Bd. 81, S. 38, 1900.

fast ausnahmslos mit der Kalimethode ausgeführt worden waren, als wertlos hätten bezeichnet werden müssen, unternahm Pflüger es, sich durch eigene Bearbeitung des Gegenstandes davon zu überzeugen, ob in der Tat die Kalilauge als hoffnungslos aufgegeben werden müsse.

Durch seine Untersuchungen lieferte Pflüger[1] den Beweis, daß Glykogen, welches ohne Benutzung der Brücke'schen Reagentien von den Organen isoliert worden ist, sogar durch starke, siedende Kalilauge nicht angegriffen wird, vielmehr bis zu 62 Stunden mit 36% Kalilauge gekocht werden kann, ohne zersetzt zu werden. Denn eine Lösung solchen Glykogenes gibt vor und nach dem Kochen mit Kali durch die Inversion gleichviel Zucker; auch wird die Fällbarkeit durch Weingeist durch die Kalibehandlung nicht verändert.

Weiterhin bewies Pflüger[2] durch quantitative Versuche, daß das nicht isolierte Glykogen der Organe sich ebenso verhält wie das isolierte. Pflüger erhielt gleichviel Glykogen, ob er einen Fleischbrei mit 30% Kalilauge ½ oder 42 Stunden kochte. Auch als Pflüger das Kochen eines Organbreies mit einer 10% Kalilauge 28 bezw. 50 Tage fortsetzte, konnte er gleiche Glykogenwerte ermitteln. Dagegen beobachtete Pflüger[3] daß durch Kochen mit 2% Kalilauge das Glykogen zum Teil zerstört, zum Teil in eine in Weingeist löslichere Form übergeführt wird.

Durch die Entdeckung von der Resistenz des Glykogens gegenüber der Einwirkung siedender konzentrierter Kalilauge hatte Pflüger den festen Boden geschaffen zur Ausarbeitung seiner Methode der Glykogenbestimmung, die im Wesentlichen darin besteht,

[1]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 92, S. 81, 1902.
[2]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 90, S. 523, 1902.
[3]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 93, S. 77, 1903.

die Organe mit sehr starker Kalilauge solange zu erhitzen, bis das Eiweis so verändert ist, daß es durch Alkohol kaum mehr gefällt wird. Hierdurch wird die Anwendung der Brücke'schen Reagentien, die nach den Ermittelungen von Pavy[1]) und Pflüger[2]) erhebliche Fehler bedingen, vermieden. Bei der Pflüger-schen Methode der Glykogenbestimmung, die, wie Martin[3]) nachgewiesen hat, 25 % mehr Glykogen liefert als die Brücke-Külz'sche, wird zur Aufschließung der Organe 30 % Kalilauge benutzt.

Um nun festzustellen, ob tatsächlich eine 30 % Kalilauge bei der Pflüger'schen Methode erforderlich ist oder ob vielleicht durch Kalilaugen geringerer Concentration die gleichen Werte zu erzielen seien, habe ich auf Anregung von Herrn Professor E. Pflüger und mit dessen gütiger Erlaubnis in dem ihm unterstellten physiologischen Institut der Universität Bonn quantitative Glykogenbestimmungen ausgeführt mit Kalilaugen verschiedenster Konzentrationen.

Ich lasse nunmehr meine Versuche folgen und werde, um Wiederholungen zu vermeiden, nur bei dem ersten Versuche eine eingehende Darstellung des von mir angewandten Pflüger'schen Verfahrens geben. Sämtliche Versuche sind nach dieser Methode angestellt mit der Modifikation, daß der jeweiligen Versuchsanordnung entsprechend, die Konzentrationen der benutzten Kalilaugen verschieden waren.

Zur Bestimmung des Glykogens wurde dasselbe in Traubenzucker übergeführt und die Zuckerlösung nach Fehling-Soxhlet titriert. Da die Inversion des Glykogens nur 97 % der theoretischen Menge

[1]) F. W. Pavy, The Carbohydrates, An Epicriticism p. 38 London 1895.

[2]) E. Pflüger, Pflügers Archiv, Bd. 75, S. 163 und Bd. 92, S. 100.

[3]) Max Martin, Inaug. Dissertation, Gießen 1906.

Zucker ergibt, ist der gefundene Zuckergehalt mit 0,927 zu multiplizieren, um den richtigen Glyklogenwert zu erhalten[1]).

I. Reihe

Als Material für die Versuche diente frisches Pferdefleisch. Dasselbe wurde möglichst von Fett und Sehnen befreit und 3 mal durch die Fleischhackmaschine getrieben. Von dem gut durchgekneteten Fleischbrei wurden für jeden Versuch 200 gr abgewogen.

Versuch I.

200 gr Fleisch wurden mit 200 ccm 60 % KOH in einem Kochkolben 3 Stunden lang im siedenden Wasserbade erhitzt. Eine halbe Stunde nach Beginn des Kochens wurde der Kolben aus dem Wasserbade genommen und zwecks gleichmässiger Verteilung des Fleischbreies krättig geschüttelt. Nach Beendigung der Kochdauer wurde die Fleischlösung abgekühlt, in einen 800 ccm Kolben gebracht, dieser bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und gemischt. Die Mischung wurde mit 2 Vol. 96 % Alkohol versetzt und an einem kühlen Orte stehen gelassen. Die überstehende Flüssigkeit wurde von dem Glykogenniederschlage vorsichtig in ein Becherglas abgegossen und filtriert. Der Glykogenbrei wurde im Becherglase mehrere Male mit 66 % Alkohol gewaschen, dem etwas konzentrierte Kochsalzlösung zugesetzt war. Nachdem alle Flüssigkeit durch das Filter gegangen war, wurde das Glykogen auf das Filter gebracht

[1]) J. Nerking, Pflügers Archiv, Bd. 85, S. 329, 1901.

und mehrere Male mit 66 %, dann 96 % Alkohol gewaschen bis das Filtrat farblos ablief. Nunmehr wurde mit Aether und 99,8 % Alkohol gewaschen und darauf der Glykogenbrei mit heißem Wasser in einem Becherglase gelöst. Die Lösung wurde in ein 150 ccm Kölbchen gebracht und die Bechergläser, das Filter und der Trichter sorgfältig mit heißem Wasser abgespült. Nachdem die Glykogenlösung erkaltet war, wurden 1,5 ccm rauchende Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 zur Abscheidung des Farbstoffes zugesetzt. darauf bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und filtriert. 100 ccm dieses Filtrates wurden in einem 150 ccm Kölbchen auf 2,2 % Salzsäure gebracht und zur Invertierung 3 Stunden im Wasserbade erhitzt. Die erhaltene Zuckerlösung wurde mit konzentrierter Na O H neutralisiert, bis zur Marke aufgefüllt und filtriert. Bei der Titration gebrauchen 20 ccm Fehling'scher Lösung, 11,9 ccm Zuckerlösung zur Reduktion. Da nun 20 ccm Fehling 0,099 gr Traubenzucker entsprechen, so enthalten 100 ccm der titrierten Lösung 0,8319 gr und 150 ccm 1,248 gr Zucker.

150 ccm Zuckerlösung = 100 ccm Glykogenlösung, 150 ccm Glykogenlösung = 1,872 gr Zucker, 150 ccm Glykogenlösung = 200 gr Fleisch. Also sind im Fleisch enthalten 0,936 % Zucker aus Glykogen = 0,8676 % Glykogen.

Versuch II.

200 gr Fleisch wurden mit 200 ccm 30 % K O H 3 Stunden gekocht, auf 800 ccm aufgefüllt und mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 100 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 13,5 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,733 gr Zucker, entsprechend einem Glykogengehalt des Fleisches von 0,7638 %.

Tabelle I.

I. Reihe: Pferdemuskel.

Nr. des Versuches	Zum Versuch benutzte Fleischmenge in gr	Zur Analyse benutzte Fleischmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen
1	200	200	30	0,8676
2	200	200	15	0,7638

II. Reihe.

Zu den Versuchen wurde frisches Pferdefleisch benutzt.

Versuch I.

200 gr Fleisch wurden mit 200 ccm 60 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 800 ccm aufgefüllt und mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 200 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 13,6 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung = 0,728 gr Zucker, entsprechend 0,8991 % Glykogen im Fleisch.

Versuch II.

200 gr Fleisch wurden mit 200 ccm 45 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 800 ccm aufgefüllt und mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 200 ccm gelöst und 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 13,75 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung = 0,72 gr Zucker, entsprechend 0,8899 % Glykogen im Fleisch.

Versuch III.

200 gr Fleisch wurden mit 200 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 800 ccm aufgefüllt und mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 200 ccm gelöst,

150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert. 20 ccm Fehling gebrauchen 14,3 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung = 0,6923 gr Zucker, entsprechend 0,8556 % Glykogen im Fleisch.

Tabelle II.

II. Reihe: Pferdemuskel.

Nr. des Versuches	Zum Versuch benutzte Fleischmenge in gr	Zur Analyse benutzte Fleischmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen
1	200	200	30	0,8991
2	200	200	22,5	0,8899
3	200	200	15	0,8556

III. Reihe.

Als Untersuchungsmaterial für sämtliche Versuche dieser Reihe wurde frisches Pferdefleisch verwendet.

Da sich herausstellte, daß bei der Titration das Filtrat der mit Fehling'scher Lösung gekochten Zuckerlösung ein trübes, gelbes Aussehen hatte und infolgedessen die Endreaktion nicht zu erkennen war, so wurde bei allen Analysen zur Beseitigung dieses Übelstandes zu 50 ccm Zuckerlösung 50 ccm einer 1,5 % chemisch reinen Dextroselösung zugesetzt.

Versuch I.

A. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 60 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm aufgefüllt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 9,8 ccm Zuckerlösung, 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung

der zugesetzten Dextroselösung 0,5240 gr Zucker, entsprechend 1,206% Glykogen im Fleisch.

B. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm aufgefüllt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 9,8 ccm Zuckerlösung. Das Fleisch enthält demnach 1,206% Glykogen.

Versuch II.

150 gr Fleisch wurden mit 150 ccm 30% KOH 3 Stunden gekocht, auf 600 ccm aufgefüllt und für jede Analyse 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt.

Analyse A.

Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,1 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,4604 gr Zucker, entsprechend 1,0669% Glykogen im Fleisch.

Analyse B.

Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 9,85 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,510 gr Zucker, entsprechend 1,1819% Glykogen im Fleisch.

Versuch III.

A. 50 gr Fleisch wurden mit 50 ccm 30% KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,1 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,4604 gr Zucker, entsprechend 1,0669 % Glykogen im Fleisch.

B. 50 gr Fleisch wurden mit 50 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 9,9 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtung der zugesetzten Dextroselösung 0,5 gr Zucker, entsprechend 1,1587 % Glykogen im Fleisch.

Versuch IV.

150 gr Fleisch wurden mit 150 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 600 ccm aufgefüllt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,15 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,4506 gr Zucker, entsprechend 1,0442 % Glykogen im Fleisch.

Versuch V.

A. 50 gr Fleisch wurden mit 50 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert. 20 ccm Fehling gebrauchen 9,9 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,5 gr Zucker, entsprechend 1,1587 % Glykogen im Fleisch.

B. 50 gr Fleisch wurden mit 50 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 100 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 100 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 9,65 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten unter Berücksichtigung der zugesetzten Dextroselösung 0,5518 gr Zucker, entsprechend 1,2783% „ Glykogen im Fleisch.

Tabelle III.

III. Reihe: Pferdemuskel.

Nr. des Versuches	Zum Versuch benutzte Fleischmenge in gr	Zur Analyse benutzte Fleischmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
1 A	100	50	30	1,206	1,206	
1 B	100	50	30	1,206		
2	150	A 50	15	1,0669	1,1244	
		B 50	15	1,1819		
3 A	50	50	15	1,0669	1,1128	unverdünnt gefällt
3 B	50	50	15	1,1587		
4	150	50	7,5	1,0442	1,0442	
5 A	50	50	7,5	1,1587	1,2185	unverdünnt gefällt
5 B	50	50	7,5	1,2783		

IV. Reihe

Als Material für diese Versuchsreihe diente die Leber eines nach den Angaben von B. Schöndorff[1]) auf Glykogen gemästeten Hundes.

Versuch I.

A. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

[1]) B. Schöndorff, Pflüger's Archiv, Bd. 99, S. 221, 1903.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,6 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,934 gr Zucker, entsprechend 13,853% Glykogen in der Leber.

B. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert. 20 ccm Fehling gebrauchen 10,8 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,9166 gr Zucker, entsprechend 13,595% Glykogen in der Leber.

Versuch II.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 30% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 11,1 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,8919 gr Zucker, entsprechend 13,2287% Glykogen in der Leber.

Versuch III.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 30% KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 50 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 600 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 11,1 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,8919 gr Zucker, entsprechend 13,2287% Glykogen in der Leber.

Versuch IV.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 30% KOH 3 Stunden gekocht. Die Organlösung wurde durch Hinzufügen von festem Ätzkali auf 30% KOH gebracht und noch eine Stunde gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol.

Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 11,0 ccm Zuckerlösung, 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,9 gr Zucker, entsprechend 13,3488 % Glykogen in der Leber.

Versuch V.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,65 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,9295 gr Zucker, entsprechend 13,7863 % Glykogen in der Leber.

Versuch VI.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 10 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Organlösung wurde durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht, auf 200 ccm verdünnt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert. 200 ccm Fehling gebrauchen 10,95 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,9041 gr Zucker, entsprechend 13,4096 % Glykogen in der Leber.

Versuch VII.

50 gr Leber wurden mit 50 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Organlösung wurde durch Hinzufügen von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 10,5 ccm Zuckerlösung, 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,9428 gr Zucker, entsprechend 13,9836 % Glykogen in der Leber.

Tabelle IV.

IV. Reihe: Hundeleber.

Nr. des Versuchs	Zum Versuch benutzte Organmenge in gr	Zur Analyse benutzte Organmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
1A	50	25	30	13,853	13,724	
1B	50	25	30	13,595		
2	50	25	15	13,2287	13,2287	
3	50	50	15	13,2287	13,2287	Unverdünnt gefällt.
4	50	25	15—30	13,3488	13,3488	Die Organlösung durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.
5	50	25	7,5	13,7863	13,7863	
6	50	25	7,5—30	13,4096	13,4096	Die Organlösung durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht.
7	50	25	7,5—30	13,9836	13,9836	Die Organlösung durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.

V. Reihe

Zu den Glykogenbestimmungen dieser Versuchsreihe wurde das Fleich des Hundes verwendet, dessen Leber in der vorhergehenden Reihe verarbeitet worden war.

Versuch I

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 60 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm aufgefüllt und 200 ccm

= 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 13,95 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,7096 gr Zucker, entsprechend 2,4667 % Glykogen in Muskel.

Versuch II.

A. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm verdünnt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,4 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6827 gr Zucker, entsprechend 2,3731 % Glykogen im Muskel.

B. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm verdünnt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,5 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6872 gr Zucker, entsprechend 2,3731 % Glykogen im Muskel.

Versuch III.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Fleischlösung wurde durch Zusatz von festen Ätzkali auf 30 % KOH gebracht, auf 400 ccm verdünnt und 200 ccm = 50 gr Fleisch gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,0 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,7071 gr Zucker, entsprechend 2,4575 % Glykogen im Muskel.

Versuch IV.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 30 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Fleischlösung wurde durch Hinzufügen von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht und dann noch eine Stunde gekocht, auf 400 ccm aufgefüllt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 13,8 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,7173 gr Zucker, entsprechend 2,4927 % Glykogen im Muskel.

Versuch V.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht, auf 400 ccm verdünnt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehlling gebrauchen 15,4 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6428 gr Zucker, entsprechend 2,2345 % Glykogen im Muskel.

Versuch VI.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht und unverdünnt = 100 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 200 ccm gelöst, 80 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,6 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,678 gr Zucker, entsprechend 2,3569 % Glykogen im Muskel.

Versuch VII.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Fleischlösung wurde durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30 % KOH gebracht, auf 400 ccm verdünnt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,6 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,678 gr Zucker, entsprechend 2,3569 % Glykogen im Muskel.

Versuch VIII.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 15 % KOH 3 Stunden gekocht. Die Fleischlösung wurde durch Zusatz von festen Ätzkali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht, auf 400 ccm aufgefüllt und 200 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 120 ccm Glykogenlösung in 150 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,4 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6875 gr Zucker, entsprechend 2,3896 % Glykogen im Muskel.

Tabelle V.

V. Reihe: Hundemuskel.

Nr. des Versuchs	Zum Versuch benutzte Fleischmenge in gr	Zur Analyse benutzte Fleischmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
1	100	50	30	2,4667	2,4667	
2A	100	50	15	2,3731	2,3731	
2B	100	50	15	2,3731		
3	100	50	15 – 30	2,4575	2,4575	Durch Zusatz von fest. Kali auf 30% KOH gebracht.
4	100	50	15 – 30	2,4927	2,4927	Durch Zusatz von festem Kali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.
5	100	50	7,5	2,2345	2,2345	
6	100	100	7,5	2,3569	2,3569	Aus unverdünnter Fleischlös. gefällt.
7	100	50	7,5 – 30	2,3569	2,3569	Durch Zusatz von fest. Kali auf 30% KOH gebracht.
8	100	50	7,5 – 30	2,3896	2,3896	Durch Zusatz von festem Kali auf 30 % KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.

VI. Reihe.

Zu den folgenden Versuchen wurde ein 9,2 kg schwerer Hund ebenfalls nach den Vorschriften von B. Schöndorff drei Tage lang auf Glykogen gemästet.

Versuch I.

A. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 100 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 12,3 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,8049 gr Zucker, entsprechend 17,9052% Glykogen in der Leber.

B. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 25 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 300 ccm gelöst, 100 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

200 ccm Fehling gebrauchen 12,3 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,8049 gr Zucker, entsprechend 17,9055% Glykogen in der Leber.

Versuch II.

A. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 4% KOH 3 Stunden gekocht. Nach 3 Stunden war noch keine vollkommene Lösung des Organbreies eingetreten, so daß die Kochdauer auf 15 Stunden ausgedehnt wurde. Das Glykogen wurde direkt, d. h. aus unverdünnter Organlösung mit 2 Vol. Alkohol gefällt und in 600 ccm gelöst. 100 ccm Glykogenlösung invertiert in 200 ccm.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,9 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6644 gr Zucker, entsprechend 14,7816% Glykogen in der Leber.

B. 50 gr Leber wurden mit 50 ccm 4% KOH 3 Stunden gekocht. Zur völligen Lösung des Organs

mußte ebenfalls die Kochdauer auf 15 Stunden verlängert werden. Das Glykogen wurde direkt = 50 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt und in 600 ccm gelöst. 100 ccm Glykogenlösung invertiert in 200 ccm. 20 ccm Fehling gebrauchen 14,5 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6827 gr Zucker, entsprechend 15,1887% Glykogen in der Leber.

Versuch III.

50 gr Leber wurden nach den Vorschriften von R. Külz mit 200 ccm siedenden Wassers überbrüht, $^1/_2$ Stunde gekocht, auf 2% KOH gebracht und dann in einem Becherglase auf 100 ccm eingedampft. Da zu diesem Zeitpunkt noch keine Lösung des Organs eingetreten war, wurde weiter gekocht. Die Kochdauer betrug im ganzen 18 Stunden. Glykogen unverdünnt = 50 gr Leber mit 2 Vol. Alkohol gefällt, in 600 ccm gelöst und 100 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,6 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,678 gr Zucker entsprechend 15,0841% Glykogen in der Leber.

Tabelle VI.

VI. Reihe: Hundeleber.

Nr. des Versuchs	Zum Versuch benutzte Organmenge in gr	Zur Analyse benutzte Organmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
1A	50	25	30	17,9052	17,9052	
1B	50	25	30	17,9052		
2A	50	50	2	14,7816	15,2851	15 St. Kochdauer, unverdünnt gefällt.
2B	50	50	2	15,1887		
3	50	50	2	15,0841	15,0841	18 St. Kochdauer. Bis z. Fällung „unverdünnt“ nach Külz behandelt.

VII. Reihe.

Zu den Glykogenbestimmungen diente das Fleisch des Hundes von Versuchsreihe VI.

Versuch I.

A. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 100 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,3 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6923 gr Zucker, entsprechend 3,85% Glykogen im Fleisch.

B. 100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 60% KOH 3 Stunden gekocht, auf 200 ccm aufgefüllt und 100 ccm = 50 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt. Glykogen in 150 ccm gelöst, 100 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

20 ccm Fehling gebrauchen 14,3 ccm Zuckerlösung. 100 ccm Zuckerlösung enthalten 0,6923 gr Zucker, entsprechend 3,85 % Glykogen im Fleisch.

Versuch II.

100 gr Fleisch wurden mit 100 ccm 4% KOH 3 Stunden gekocht. Nach 3 Stunden war noch keine vollkommene Lösung des Fleischbreies eingetreten, sodaß die Kochdauer auf 15 Stunden ausgedehnt wurde. Das Glykogen wurde aus unverdünnter Fleischlösung = 100 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt, in 400 ccm gelöst und 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

Da die Zuckerlösung wegen starker Braunfärbung nicht titriert werden konnte, wurde der Zucker nach der von Pflüger angegebenen Kupferoxydulmethode mit nachfolgender Kontrolle nach Volhard bestimmt.

Aus 2 Analysen wurden im Mittel gefunden 118,43 mg Zucker, entsprechend 2,928 % Glykogen im Fleisch.

Versuch III.

100 gr Fleisch wurden nach den Vorschriften von R. Külz mit 400 ccm siedenden Wassers überbrüht, ½ Stunde gekocht und darauf in einer Porzellanschale auf 200 ccm eingedampft. Da zu diesem Zeitpunkt noch keine Lösung des Fleischbreies eingetreten war, wurde weiter gekocht. Die Kochdauer betrug im ganzen 18 Stunden. Das Glykogen wurde aus unverdünnter Fleischlösung = 100 gr Fleisch mit 2 Vol. Alkohol gefällt, in 400 ccm gelöst und 150 ccm Glykogenlösung in 200 ccm invertiert.

Die Zuckerbestimmung geschah nach der Pflügerschen Kupferoxydulmethode mit nachfolgender Kontrolle nach Volhard. Das Mittel aus 2 Analysen ergab 138,1 mg Zucker, entsprechend 3,4089 % Glykogen im Fleisch.

Tabelle VII.

VII. Versuchsreihe: Hundemuskel.

Nr. des Versuches	Zum Versuch benutzte Fleischmenge in gr	Zur Analyse benutzte Fleischmenge in gr	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
1 A	100	50	30	3,85	3,85	
1 B	100	50	30	3,85		
2	100	100	2	2,928	2,928	15 Stunden Kochdauer bis zur Lösung erforderlich, unverdünnt gefällt.
3	100	100	2	3,4089	3,4089	Bis zur Fällung — unverdünnt — nach Külz behandelt. 18 Stunden Kochdauer.

Die Gesamtergebnisse meiner Versuche sind in nachstehender General-Tabelle zusammengestellt.

General-Tabelle.

Nr. des Versuches	Kochdauer in Std.	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
			I. Reihe: Pferdemuskel.		
1	3	30	0,8676	0,8676	
2	3	15	0,7638	0,7638	
			II. Reihe: Pferdemuskel.		
1	3	30	0,8991	0,8991	
2	3	22,5	0,8899	0,8899	
3	3	15	0,8556	0,8556	
			III. Reihe: Pferdemuskel.		
1A	3	30	1,206	1,206	
1B	3	30	1,206		
2	3	15 a	1,0669	1,1244	
		b	1,1819		
3A	3	15	1,0669	1,1128	Unverdünnt gefällt.
3B	3	15	1,1587		
4	3	7,5	1,0442	1,0442	
5A	3	7,5	1,1587	1,2185	Unverdünnt gefällt.
5B	3	7,5	1,2783		

Nr. des Versuches	Kochdauer in Std.	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
			IV. Reihe: Hundeleber.		
1A	3	30	13,853	13,724	
1B	3	30	13,595		
2	3	15	13,2287	13,2287	Unverdünnt gefällt.
3	3	15	13,2287	13,2287	
4	4	15 (30)	13,3488	13,3488	Die Organlösung durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.
5	3	7,5	13,7863	13,7863	
6	3	7,5 (30)	13,4096	13,4096	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebr.
7	4	7,5 (30)	13,9836	13,9836	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.
			V. Reihe: Hundemuskel.		
1	3	30	2,4667	2,4667	
2A	3	15	2,3731	2,3731	
2B	3	15	2,3731		
3	3	15 (30)	2,4575	2,4575	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebr.
4	4	15 (30)	2,4927	2,4927	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.
5	3	7,5	2,2345	2,2345	
6	3	7,5	2,3569	2,3569	Unverdünnt gefällt.
7	3	7,5 (30)	2,3569	2,3569	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebr.
8	4	7,5 (30)	2,3896	2,3896	Durch Zusatz von festem Ätzkali auf 30% KOH gebracht und noch 1 Stunde gekocht.

Nr. des Versuches	Kochdauer in Std.	Konzentration der KOH in %	Prozentgehalt an Glykogen	Mittelwert in %	Bemerkungen
			VI. Reihe: Hundeleber.		
1A	3	30	17,9052	17,9052	
1B	3	30	17,9052		
2A	15	2	14,7816	15,2851	Zur Lösung des Organs 15 Stunden Kochdauer erforderlich; unverdünnt gefällt.
2B	15	2	15,1887		
3	18	2	15,0841	15,0841	Bis zur Fällung — unverdünnt — nach Külz behandelt. Zur Lösung des Organs 18 Stunden Kochdauer erforderlich.
			VII. Reihe: Hundemuskel.		
1A	3	30	3,85	3,85	
1B	3	30	3,85		
2	15	2	2,928	2,928	Bis zur Lösung des Fleisches 15 Std. Kochdauer erforderlich; unverdünnt gefällt.
3	18	2	3,4089	3,4089	Bis zur Fällung — unverdünnt — nach Külz behandelt. Zur Lösung des Fleisches 18 Stunden Kochdauer erforderlich.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Es geht also aus diesen Versuchen hervor (vergl. Generaltabelle), daß es bei der Glykogen-Analyse notwendig ist, die Organe in 30 % KOH aufzulösen, denn bei der Aufschließung der Organe mit 30 % KOH ergab die Analyse einen höheren Wert als bei der Aufschließung mit Kalilaugen geringerer Konzentration.

Die Wichtigkeit dieser von mir erhaltenen konstanten Ergebnisse erhellt besonders bei Erwägung der Tatsache, daß die meisten Glykogen-Untersuchungen bisher nur mit verdünnter Kalilauge ausgeführt worden sind.

Es bleibt nun die Frage, wie das Defizit an Glykogen zu erklären ist, wenn die verdünnte Kalilauge zur Aufschließung der Organe benutzt wird.

Leider verhindern mich die mir obliegenden amtlichen Verpflichtungen die Lösung dieser Aufgabe durch weiter fortgesetzte Untersuchungen selbst sofort in die Hand zu nehmen.

Herrn Geheimrat **Pflüger**
danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit und die vielfache Hilfe, die er mir hat zu Teil werden lassen.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. **Schöndorff** und Herrn Dr. **Junkersdorf** für die liebenswürdige Unterstützung.

Lebenslauf.

Am 18. Juli 1877 wurde ich, Johann Peter Paul Heyden, in Köln a. Rh. geboren. Meine Schulbildung erhielt ich auf einer städtischen Elementarschule und sodann auf dem Realgymnasium zu Köln, wo ich Ostern 1897 mein Abiturientenexamen bestand. Nachdem ich die ersten drei Semester an der Tierärztlichen Hochschule in München studiert hatte, ging ich im Wintersemester 1898 an die Tierärztliche Hochschule in Berlin und unterzog mich daselbst sowohl der naturwissenschaftlichen Prüfung (26. April 1899) als auch der Approbationsprüfung (20. November 1902) und der Prüfung behufs Anstellung als preußischer beamteter Tierarzt (20. August 1908). Nach meiner Approbation war ich bei der Veterinär-Polizei in Köln beschäftigt und bin seit dem 1. April 1903 in Hermülheim b. Köln als praktischer Tierarzt tätig.